稻熱病菌對水銀離子耐性之研究*

簡　錦　忠

一、前　　言

近年來本省對於稻熱病之研究工作已逐漸加強，並獲悉省內之稻熱病菌有10餘種不同生理型之存在[1]。又在田間應用有機汞劑類之殺菌劑對該病已得優良之防治效果。但多年連續施用水銀劑之影響，將來可能出現變異性之耐藥菌系。關於此項研究，據 J. J. Christensen[2] 之報告，*Gibberella zeae* 在含有 malachite green, ethyl mercuric phosphate，等培養基上繼代培養時，該菌對此等藥劑漸呈抵抗性，又山崎氏[5]等對稻熱病菌與硫酸銅，硼酸亦有同樣之報告。且吉井氏[8,9,10]等曾提出稻熱病菌對 phenyl mercuric acetate 之耐性報告。本研究係為探討本省稻熱病菌對汞劑耐性產生與否而作此試驗。

本研究進行時，得鍾順昌先生之協助，文成蒙臺灣大學陳教授其昌校閱，均此一併謹誌謝忱。

二、試驗材料與方法

I　供試材料：

(1)　供試病菌：稻熱病菌 (*Piricularia oryzae* Cav.) 係本系保存，致病力強之 0S-45S 菌號（對16種判別稻種均呈感病性病斑）及致病力弱之 1C-32S 菌號（僅對16判別稻種中之崑山五香粳及臺中65號兩品種呈感病性病斑）。

(2)　供試水銀離子：$HgCl_2$

(3)　基礎培養基：馬鈴薯煎汁洋菜培養基 (P. S. A.)。

II　方　　法：

將基礎培養基（馬鈴薯 200 g, 洋菜 18 g, 蒸餾水 1000 cc, 蔗糖 20 g），加注不同濃度之 $HgCl_2$（最低濃度自 0.018 mM 開始，分為五階段，每階段增加 0.025～0.032 mM 之濃度），然後倒入培養瓶內（每瓶 20 cc.），待凝固後，接種稻熱病菌之小菌絲塊，並放置於 28°C 定溫箱內，經過一定時間後觀察各處理之菌落色澤，形態及生長速度等性質，二週後作最後之觀察。測定該菌在水銀離子下之可能生長濃度，同時另以無加水銀離子之馬鈴薯培養基為對照，並比較兩生理型之病菌對水銀離子耐性之差異。

根據上述測定之結果，判定其可能生長之最高濃度之菌落為次代之接種源，並以此濃度為最低濃度，分為五階段與對照比較，如此連續進行測定試驗，至最高耐性濃度之確定為止。以探討 *P. oryzae* 在不同濃度之水銀離子上連續培養及獲得耐性之程度。再將耐性菌及正常菌於溫室內舉行接種試驗。根據本研究室鑑定稻熱病菌生理小種之方法，於16判別稻種上，測定其感病反應之差異。

三、結果及討論

A　兩種不同生理小種之稻熱病菌對水銀離子之自然抵抗性：

未曾與藥劑接觸過之病原菌，對於該藥劑本來就具有之抵抗性，稱之為自然抵抗性。而一般由田間採集之病原菌，直接測定其對藥劑可能生長之界限濃度為自然抵抗性，實際上因田間藥劑防治之結果，田間直接採得之菌種，其對藥劑之抵抗性可能已受藥劑之影響。本試驗所供試之菌系，係

*本研究之完成得國家長期發展科學委員會之補助。

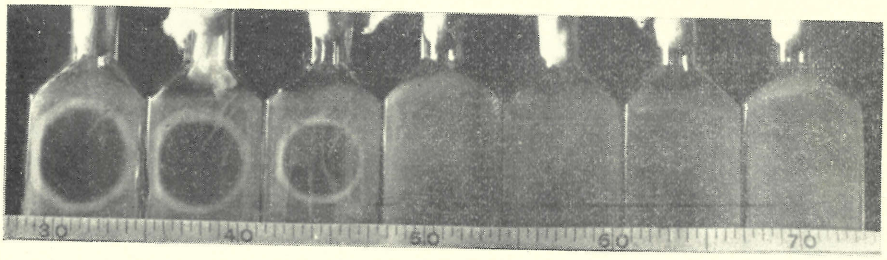
本系稻熱病菌生理小種研究室，由全省各地直接採集，經單胞純系分離及連續培養保存者。如表一，致病力強之生理小種 (0S～45S) 其自然抵抗性爲 0.05 mM (圖一)；致病力弱之生理小種 (1C–32S) 爲 0.082mM (圖一)。

表一　不同濃度之水銀離子對稻熱病菌兩菌絲生長之影響

Table 1. The natural resistance of two different physiologic races of *P. oryzae* against mercuric chloride

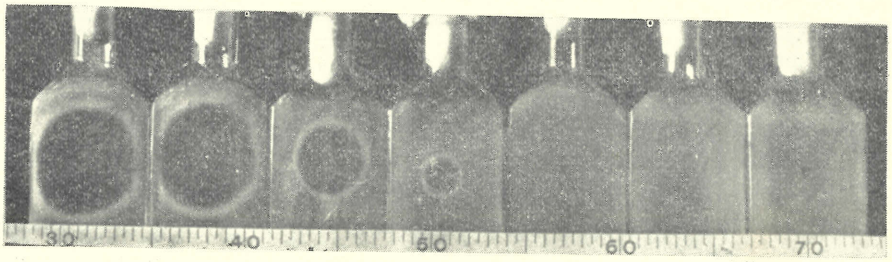
菌株 ＼ 菌落直徑 (mm) ＼ $HgCl_2$ 濃度 (mM)	0.018	0.050	0.082	0.114	0.146	0.178	CK
0S–45S	44	36	—	—	—	—	48
1C–32S	56	30	16	—	—	—	56

註：接種後第10天之調查記錄。



CK　0.018　0.050　0.082　0.114　0.146　0.178 mM

0S–45S



CK　0.018　0.050　0.082　0.114　0.146　0.178 mM

1C–32S

圖一　不同濃度之水銀離子對稻熱病菌兩菌絲生長之影響

Figure 1. The natural resistance of two different physiologic races of *P. oryzae* against mercuric chloride

B　兩種不同生理小種之稻熱病菌對水銀離子耐性之增強：

爲測定稻熱病菌在田間是否對水銀離子具有耐性之增強，事先在實驗室內檢討其耐性增強之可能性是必然的。本試驗以 P. S. A. 爲基本培養基，注入數種不同濃度之昇汞，以測定自然抵抗性所得 0.050 mM 之致病力強菌絲及 0.082 mM 之致病力弱菌絲爲接種源。經培養測定後，以其最高濃度生長之菌絲爲次一系列水銀離子培養基之接種源，每兩週爲一代連續培養結果如表二。兩種生理小種顯示不規則之耐性增強，漸次由 0.050 或 0.082 mM 達 0.375 mM。

如表二，數代連續培養試驗之結果，稻熱病菌對水銀離子，顯示不規則之耐性增強，每一代之增強由 0.025 mM 至 0.100 mM 不等。耐性之增加每代逐漸減少，第六代達 0.375 mM 後，兩生理小種都達最高耐性，連續再培養四代其耐性即不增加，亦無減低之趨勢，乃保持於 0.375 mM

表二 兩種不同生理小種之稻熱病菌對水銀離子耐性增強之情形

Table 2. Increasing drug resistance of two different physiologic races of *P. oryzae* against mercuric chloride.

代數	菌株 \ 菌落直徑 (mm) \ $HgCl_2$ 濃度 (mM)	0.034	0.050	0.066	0.082	0.093	0.114	0.125	0.150	0.175	0.200
1	0S-45S	40	32	26	22	16	⑧	—	—	—	—
2							40	36	32	26	16
3											24
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
1	1C-32S			36	24	18	⑫	—	—	—	—
2						42	32	24	18	12	⑥
3											12
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											

代數	菌株 \ 菌落直徑 (mm) \ $HgCl_2$ 濃度 (mM)	0.225	0.250	0.275	0.300	0.325	0.350	0.375	0.400	CK_x	CK
1	0S-45S	—								48	48
2		④	—	—	—	—				56	56
3		6	②	—	—	—	—	—		60	60
4			66	62	(52)	—	—	—	—	66	68
5					10	④	—	—	—	62	70
6						20	12	⑧	—	68	72
7								⑧	—	60	60
8								⑩	—	62	66
9								⑥	—	62	66
10								⑧	—	60	62
1	1C-32S	—	—							54	54
2		—	—	—	—	—				56	56
3		10	6	②	—	—	—	—		56	56
4				66	(60)	—	—	—		66	68
5					10	④	—	—	—	66	70
6						20	16	⑫	—	64	68
7								⑩	—	60	60
8								⑩	—	60	60
9								⑩	—	64	66
10								⑩	—	66	66

註：1. CK：示正常菌之對照處理。

2. CK_x：示耐藥菌之對照處理。

3. ○：示下代之接種源。

之濃度上。各處理之菌落色澤，形態均與未經藥劑處理之對照相同，只是生長速度每代均有變化，此因受藥劑濃度之抑制外，天然培養基養分之差異亦有密切關係。

C　兩種不同生理小種之稻熱病菌對水銀離子耐性之持續：

水銀離子耐性菌於基礎培養基（無藥劑）上作復元培養試驗，以觀察耐性持續之有無。山崎等曾將硫酸銅耐性之稻熱病菌以無硫酸銅培養基作數代之復元培養，其耐性稍爲降落，但不能復元。本試驗第一代 (0.114 mM) 耐性菌在無水銀離子之基礎培養基上，以二週爲一代，連續測定其耐性之程度。經10代之結果如表三。

表三　第一代 (0.114 mM) 耐性菌與其每代復元菌在不同濃度之水銀離子培養基之發育比較

Table 3. The mycelial growth of 0.114 mM resistant culture and each of its recovered stage.

菌株	HgCl$_2$ 濃度 (mM)	0.05	0.10	0.150	0.200	0.250	CK$_X$	CK
0S-45S	0.114 mM 耐藥菌	+++	++	+	+	−	+++	+++
	復元菌代數 Stage of recovered culture 1	+++	++	+	+	−	+++	+++
	2	+++	++	+	+	−	+++	+++
	3	+++	++	+	+	−	+++	+++
	4	+++	++	+	+	−	+++	+++
	5	+++	++	+	+	−	+++	+++
	6	+++	++	+	+	−	+++	+++
	7	+++	++	+	+	−	+++	+++
	8	+++	++	+	+	−	+++	+++
	9	+++	++	+	+	−	+++	+++
	10	+++	++	+	+	−	+++	+++
1C-32S	0.114 mM 耐藥菌	+++	++	+	+	−	+++	+++
	復元菌代數 Stage of recovered culture 1	+++	++	+	+	−	+++	+++
	2	+++	++	+	+	−	+++	+++
	3	+++	++	+	+	−	+++	+++
	4	+++	++	+	+	−	+++	+++
	5	+++	++	+	+	−	+++	+++
	6	+++	++	+	+	−	+++	+++
	7	+++	++	+	+	−	+++	+++
	8	+++	++	+	+	−	+++	+++
	9	+++	++	+	+	−	+++	+++
	10	+++	++	+	+	−	+++	+++

註：1. 復元菌供於第一次耐性測定者來自 0.114 mM 耐藥菌在無水銀離子之基礎培養基上（CK$_X$）生長者，第二次者來自第一次 CK$_X$，第三次者來自第二次 CK$_X$，以下類推。
2. +：示發育良；　±：示發育不良；　−：示無生長。
3. 接種後第十天之調查記錄。

據表三顯示稻熱病菌，經連續復元培養其對水銀離子之耐性均無變化。在此試驗範圍內爲永續性，其機構如何，值得更進一步之研究。

D　耐藥菌與正常菌之病原性比較：

利用本研究室研究稻熱病病原菌生理小種之設備，判別稻品種及方法，測定耐藥菌及正常菌在

16判別稻品種上之感病反應，並與未經處理母菌比較其病原性之差異。其結果如表四。

表四　未處理之母菌與處理後之耐藥菌及正常菌對16判別稻品種上之感病反應

Table 4. Comparing the disease reactions of 16 different rice varieties to the drug resistant cultures with to normal 10-stages cultures and to morther culture.

菌株 / 稻品種	0S-45S			1C-32S			備考
	母菌	耐藥菌	正常菌	母菌	耐藥菌	正常菌	
崑山五香粳	S	S	S	S	S	S	
臺中 65 號	S	S	S	S	S	R	
稗稈稻	S	S	R	R	R	R	
臺中 171 號	S	S	R	R	S	R	
嘉農 242 號	S	S	S	R	S	S	
光復 1 號	S	S	S	R	S	S	
嘉農育280號	S	S	R	R	S	R	
臺中系比33號	S	S	R	R	S	R	
關東 51 號	R	R	R	R	R	R	
農林 21 號	R	R	R	R	R	R	
Sensho	R	R	R	R	R	R	
Cutsugulcule	S	S	S	R	R	R	
Natala	S	S	S	R	S	S	
高脚柳州	S	S	S	R	R	R	
高雄大粒清油	S	S	S	R	R	R	
臺中低脚烏尖	S	S	S	R	R	R	

據表四得知，經10代連續培養之正常菌與$HgCl_2$不同濃度之培養基連續培養所得耐藥菌，其病原性似有顯著變化。據本試驗結果，致病力強及弱之兩菌株，耐藥菌之病原性都強於正常菌。一般病原菌經培養基上連續培養後，其病原性均有退化現象，但經藥劑處理之耐藥菌，都無此現象。如表四，致病力強之菌號 (0S-45S)，耐藥菌在16稻品種上之感病反應與母菌完全相同，而經連續培養10代之正常菌且有退化情形發現。致病力弱之菌株 (1C-32S)，耐藥菌之致病力強於對照處理之正常菌，但母菌之致病力反而差於處理後之菌種，此原因可能受試驗環境之差異所致或病原菌本身之變異現象，有更進一步探討之必要。

四、摘　　要

本試驗係於實驗室內探討兩種不同生理小種之稻熱病病原菌，由於連續施用水銀劑後是否可能產生變異性耐藥菌種而舉行，其結果簡述如下：

1. 致病力強之稻熱病菌生理小種，對 $HgCl_2$ 之自然抵抗性爲 0.050mM，致病力弱之生理小種爲 0.082mM。

2. 供試兩生理小種對水銀離子顯示不規則之耐性增強。培養至第六代達 0.375mM 爲最高耐性。此後再連續培養四代，均未有增加耐性之趨勢。

3. 供試耐藥菌 (0.114 mM) 之兩種生理小種，連續培養於無藥劑之基本培養基內，其對水銀離子耐性之增加一致保持在 0.20 mM，似可認本菌對水銀離子具有永續耐性。

4. 根據處理前與處理後之菌種接種於16種稻品種上所呈現病斑之差異，測定其病原性之結果

，耐藥菌之病原性均强於連續培養後之正常菌，與處理前母菌之病原性比較，致病力强之生理小種耐藥菌與母菌完全相同，連續培養之正常菌且有退化現象。致病力弱之生理小種耐藥菌及正常菌均比母菌爲强。

参考文献

(1) Chien, C. C., S. Y. Lin and S. C. Jong (1963): Studies on the physiologic races of *Piricularia oryzae* Cav. (II) Agricultural Research 12 (3) : 29-39.

(2) Christensen, J. J. (1946): Genetic Variation in *Gibberella zeae* in Relation to Adaptation, Phytopathology 36: 396.

(3) 井上親男，佐々木茂樹(1957)：2、3水稻病害菌に對する水銀の作用(講要)日、植、病、報，22：38.

(4) .鈴木穗積 (1962) ：いもち菌の藥劑耐性 (講要) ，日、植、病、報，27 (2) ：85.

(5) 山崎義人，土屋茂 (1956) ：植物病原菌の藥劑抵抗性，植物防疫，10 (5) ：187～190.

(6) 山崎義人 (1961) ：いもち病菌の藥劑抵抗性，植物防疫，15 (5) ：220～224.

(7) Yamasaki, Y. (1954): Drug-resistance of the rice blast fungus, *Piricularia oryzae*, Br. et Cav. Proc. Intern. Gen. Symp., 448～452.

(8) 吉井啓，淺田泰次，木曾皓 (1956) ：植物病原菌の藥劑耐性に關する研究，(II)フエニール醋酸水銀に對する稻熱病菌の耐性について (講要) ，日、植、病、報，21：131.

(9) 吉井啓、淺田泰次、木曾皓、田邊昇 (1957) ：植物病原菌の藥劑耐性に關する研究(III)フエニール酢酸水銀耐性，稻熱病菌の他水銀劑による影響並びにその耐性の持續について (講要) ，日、植、病、報，22：33.

(10) 吉井啓、淺田泰次、木曾皓、田邊昇 (1958) ：植物病原菌の藥劑耐性に關する研究，第一報フエニール酢酸水銀に對する稻熱病菌の耐性について，日、植、病、報，23：215～218.

STUDIES ON THE DRUG RESISTANCE OF *PIRICULARIA ORYZAE* AGAINST MERCURIC CHLORIDE

by

C. C. Chien

ENGLISH SUMMARY

In order to determine the drug resistance of *Piricularia oryzae*, the rice blast fungus, against mercuric chloride ($HgCl_2$), two different physiologic races of *P. oryzae* were tested in this experiment. The results are summarized as follows:

(1) The natural drug resistance of 0S-45S, a strongly virulent race is at 0.05 mM; while 1C-32S, a weakly virulent race, at 0.082 mM.

(2) When the two different races of *P. oryzae* was cultured on the potato dextrose agar medium containing different concentrations of $HgCl_2$ for 6 stages (one stage is formed of 2 weeks culture). The fungus acquired the highest degree of drug resistance at 0.375 mM.

(3) Even if the drug resistant fungus at 0.114 mM is cultured on the normal medium containing no mercuric chloride for 10 stages (one stage is formed of 2 weeks culture), its resistance is not lost.

(4) Comparing the disease reactions of 16 differential rice varieties to the drug resistant cultures with to normal 10-stage cultures (successive cultivation on normal medium containing no mercuric chloride) of these two different races, the drug resistant cultures of both races are stronger in infectivity than normal 10-stage cultures of them. While compared with mother cultures, the drug resistant culture of 0S-45S race showed the same virulence as its mother culture, but the normal 10-stage culture became weaker in virulence. However, the drug resistant culture and normal 10-stage culture of 1C-32S race were more virulent than their mother culture.